Aus der inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
zu Chemnitz (Prof. Dr. Clemens).

Beiträge zu den Grundlagen der Antiforminmethode zum Nachweis von Tuberkelbazillen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Universität zu Leipzig

vorgelegt von

Georg Baumann
approb. Arzt aus Crimmitschau.

ACAD. LIBRAT. BIBL.

LEIPZIG.
Druck von Emil Lehmann
1911.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
zu Leipzig. 21. März 1911.

Referent: Herr Geh. Med.-Rat Prof. Dr. von Strümpell.

Wenn man früher das Vorhandensein von Tuberkelbazillen nachweisen wollte, so hatte man drei verschiedene Möglichkeiten:

das Ausstrichpräparat,

die Züchtung der Tuberkelbazillen auf künstlichem Nährboden und

den Tierversuch.

Die zuletzt genannten beiden Methoden waren umständlich und zeitraubend, und es kam in Krankenhäusern und für den Praktiker fast ausschließlich nur das gewöhnliche Ausstrichpräparat in Betracht.

Dieses Verfahren versagte oft, namentlich bei spärlichem Gehalt an Tuberkelbazillen, und man kam deshalb auf den Gedanken die Tuberkelbazillen anzureichern, nicht sowohl dadurch, daß man die Bazillen vermehren wollte, sondern vielmehr dadurch, daß man die ausgeschiedene Substanz. z. B. das Sputum, durch irgend einen lösenden Zusatz, der den Tuberkelbazillen nicht schadete, zu homogenisieren und dann durch ein weiteres Verfahren die darin enthaltenen Tuberkelbazillen auf einem kleinen Raum zu konzentrieren suchte, von welchem Raum man sie leicht auf den Objektträger bringen konnte.

Zu diesem Zwecke hatte zuerst Biedert[1]) ein Verfahren vorgeschlagen. Er setzte dem Sputum Natronlauge zu, verrührte das Gemenge, kochte und zentrifugierte es. Ein weiteres Verfahren wurde von Pfuhl[2]) angegeben. Er setzte Kalkwasser und Sodalösung zu und filtrierte später durch Asbest. Ein weit besseres Verfahren gab Sachs-Mücke[3]) an. Dieser homogenisierte mit Wasserstoffsuperoxyd, empfahl später als geeignetes Präparat Perhydrol Merck. Alle diese genannten Verfahren zeigten immer noch große Mängel, wurden deshalb abgeändert, aber nicht immer verbessert, so daß sie sich eigentlich nicht recht einbürgerten.

Da hielt Uhlenhut[4]) Mitte 1908 in der „Berliner Militärärztlichen Gesellschaft" einen Vortrag über ein neues bakterienauflösendes Desinfektionsmittel: Antiformin, eine gelbliche, durchsichtige, stark nach Chlor riechende Flüssigkeit. Es besteht in wässeriger Lösung aus gleichen Teilen Liquor Natrii hypochlorici und Natronlauge in konzentrierter Form. Es war bisher seiner wässerigen und schleimlösenden Wirkung halber hauptsächlich in Brauereibetrieben zur Verwendung gelangt. Die Wirkung beruht infolge des Gehaltes an unterchloriger Säure hauptsächlich auf Oxydation durch abgespaltenen Sauerstoff ($2\,ClOH = 2\,HCl + O_2$).

Untersuchungen, die im Kaiserlichen Gesundheitsamt angestellt wurden und die die desinfizierende Wirkung des Antiformins dartun sollten, ergaben glänzende Resultate gegenüber anderen Desinfektionsmitteln, z. B. war frisches

---

[1]) Biedert, Berliner Klinische Wochenschritt 1886—87, S. 30, 1891, S. 31.

[2]) Pfuhl, Zeitschrift für Hygiene, Band 39, S. 52.

[3]) Sachs-Mücke, Münchner Med. Wochenschrift 1906, S. 50. „Ein Hilfsmittel bei Sedimentierungsverfahren".

[4]) Uhlenhut, Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten I. Abteil. Referate Band XLII, Beiheft XI.

Eau de Javelle drei bis siebenmal weniger wirksam als das Antiformin. Dazu kommt, daß das Antiformin ein sehr billiges Desinfektionsmittel ist und sich infolge seines Zusatzes an Alkalihydrat auch sehr lange hält, ohne daß man besondere Acht auf die Aufbewahrung zu geben hätte. Unser Antiformin besaß, obwohl es im Laboratorium in einem ganz gewöhnlichen eingeflochtenen Glasballon unter einfachem Korkverschluß aufbewahrt wurde, nach sechs Monaten noch seine volle Wirksamkeit.

Es ergab sich nun bei jenen im Kaiserlichen Gesundheitsamte angestellten Versuchen, daß das Antiformin, im Gegensatz zu anderen Desinfektionsmitteln, wie Sublimat, auch eiweißhaltigem Material[5]) gegenüber, wie Eiter, Blut voll zur Wirkung kam. Auch Carbol blieb bei diesen Versuchen hinter dem Antiformin zurück. Nun fiel aber bald die interessante Tatsache auf, daß alle Bakterien schon in wässerigen Antiforminlösungen in mehr oder weniger kurzer Zeit aufgelöst wurden, während die säurefesten Stäbchen, die Tuberkel-, Butter- und Smegmabazillen sich anders verhielten. Sie wurden nicht aufgelöst. Während sich bei den übrigen Bakterien die Flüssigkeit vollständig klärte, blieb bei den Lösungen, die Tuberkelbazillen enthielten, eine Trübung zurück. Erst fünfzigprozentige Lösungen konnten, wie der nachfolgende Meerschweinchenversuch zeigte, die Tuberkelbazillen abtöten. Diese Widerstandsfähigkeit wird darauf zurückgeführt, daß die säurefesten Stäbchen von einer Fettwachshülle umgeben sind, die anscheinend chemisch schwerer angreifbar ist. Uhlenhut versuchte nun mit schwächeren Lösungen des Antiformin tuberkelbazillenhaltiges Material wie Sputum, Milch etc. von anderen Bakterien zu

[5]) Uhlenhut und Xylander, Berliner Klin. Wochenschr. 1908, No. 29. „Antiformin ein neues bakterienauflösendes Mittel.

befreien, ohne die Tuberkelbazillen zu schädigen, und dies gelang ihm auch vollständig, wie er durch Ueberimpfung des ausgewaschenen zentrifugierten Antiforminsedimentes bewies. Die Tuberkelbazillen, die er durch Zentrifugieren aus diesen Lösungen gewann, erschienen in ihrer Wirksamkeit nicht abgeschwächt, sondern entwickelten sich in kurzer Zeit weiter.

Durch diese Tatsache, daß andere Bakterien abgetötet wurden, während die Tuberkelbazillen erhalten blieben, kam man darauf, das Antiformin zur Anreicherung der Tuberkelbazillen in den Ausscheidungen vornehmlich im Sputum zu verwenden [6]). Die ersten Versuche nahm Hüne in Stettin vor. Er behandelte Sputum, Stuhl und Harn mit Antiformin und die Erfolge entsprachen seinen Erwartungen. Seine Methoden waren folgende:

Er fügte zum Auswurf das gleiche Quantum Wasser und fügte soviel Antiformin zu, daß eine zweiprozentige Lösung entstand. Dann ließ er den Bodensatz sich absetzen brachte denselben auf den Objektträger und färbte. Oder er vermischte den Auswurf wieder mit dem gleichen Quantum Wasser und setzte soviel Antiformin zu, daß eine fünfundzwanzigprozentige Lösung entstand. Dann goß er die obere Flüssigkeit ab, zentrifugierte den Bodensatz, goß die klare obenstehende Flüssigkeit abermals ab, füllte mit destilliertem Wasser wieder auf und zentrifugierte abermals. Eventuell wiederholte er diese Auswaschung mit destilliertem Wasser.

Bald tauchten nun andere Methoden auf, mittels Antiformin Tuberkelbazillen auszureichern. So wurde in der

---

[6]) Hüne, Hygienische Rundschau 1908, No. 18. „Antiformin zur Anreicherung der Tuberkelbazillen im Auswurf, Stuhl usw.

Tuberkulinstation der Landesversicherungsanstalt Berlin nach folgender Methode gearbeitet [7]):

Im Reagensglas wurden fünf Kubikzentimeter Antiformin und fünfundzwanzig Kubikzentimeter Wasser gemischt und eine Mischung von Sputum und Wasser hinzugefügt, so daß eine zwanzigprozentige Antiforminlösung entstand. Diese Mischung wurde dann kräftig durchgeschüttelt und vierundzwanzig Stunden bei Zimmertemperatur oder vier bis sechs Stunden im Brutofen stehen gelassen. Der Inhalt wurde dann auf zwei bis drei Zentrifugengläschen verteilt und zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wurde abgegossen und der Bodensatz mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen, dann wurde nochmals zentrifugiert und ausgewaschen und schließlich ein drittes Mal zentrifugiert. Die Flüssigkeit wurde bis auf zwei oder drei Tropfen abgegossen, der Bodensatz auf den Objektträger gebracht, an der Luft getrocknet, fixiert und gefärbt.

Das Auswaschen geschah lediglich deswegen, um, ebenso wie die Kalilauge bei der Biederetschen Methode, das Alkali des Antiformin zu entfernen, das das Trocknen und Haften des Sedimentes auf dem Objektträger erschwerte.

Nach einer ähnlichen Methode wurde in der pathologisch-anatomischen und bakteriologischen Anstalt des städtischen Krankenhauses Charlottenburg-Westend mit Antiformin gearbeitet [8]).

Es wurden dort fünfzehnprozentige Antiforminlösungen benutzt und ein Fünfzehntel bis ein Zwanzigstel der Menge Sputum hinzugesetzt. Die Behandlung war im übrigen die-

[7]) Meyer, Tuberkulosis 1909, No. 2. „Zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum mittels Antiformin".

[8]) Seemann, Berliner Klin. Woschenschrift 1909, No. 4. „Die Brauchbarkeit des Antiformin zum Nachweis von Tuberkelbazillen".

selbe. Man klagte dort über die schlechte Haftbarkeit [9]). Es wurde deshalb das Sediment mit etwas Sputum derselben Probe oder mit etwas Hühnereiweißwasser versetzt. Das erstere Verfahren genügt überall dort, wo es sich lediglich um den Nachweis der Tuberkelbazillen, nicht aber zugleich um Reinigung von anderen Bakterien handelt.

Inzwischen erschien eine neue Veröffentlichung, in der eine neue Methode besprochen wurde zur Anreicherung der Tuberkelbazillen und zwar mit Normalkalilauge und nachfolgender Ausschüttelung mit einem Kohlenwasserstoff [10]). Es wurden fünf Kubikzentimeter Sputum mit fünfzig Kubikzentimeter Normalkalilauge gemischt und unter häufigem Schütteln im Brutschrank homogenisiert. Diese homogene Mischung wurde dann mit fünfzig Kubikzentimetern Leitungswasser und zwei Kubikzentimetern Ligroin versetzt. Es wurde dann bis zur dichten Emulsion geschüttelt und das ganze Material im Wasserbad bei sechzig bis fünfundsechzig Grad erwärmt, um den Kohlenwasserstoff rascher zum Austreiben zu bringen. Man hatte gefunden, daß durch das Schütteln mit dem Kohlenwasserstoff sich die Tuberkelbazillen von den Begleitbakterien trennten und in die Höhe gerissen wurden. Sie sammelten sich also in der Grenzschicht zwischen Lösung und Ligroin an und konnten von da mittels Platinöse auf den Objektträger gebracht werden.

Durch diesen Befund angeregt, wurden im hygienischen Institut der Universität Halle [11]) Versuche mit Antiformin

[9]) Sverres, Zeitschr. für klin. Med 1910, Bd. 70, H. 1 u. 2, S. 95. „Ueber den Nachweis der Tuberkelbazillen im Sputum mittels der Antiforminmethode".

[10]) Lange und Nitzsche, Deutsche Med. Wochenschrift 1909, No. 10, S. 435. „Eine neue Methode des Tuberkelbazillennachweises.

[11]) Haserodt, Hygienische Rundschau 1909, No. 12. „Neue Methoden zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum".

und Ligroin angestellt. Es wurden zu diesem Zweck nur fünfprozentige Antiforminlösungen verwandt, um das Haften der Bazillen auf dem Objektträger zu erleichtern. Man war mit dem Resultat zufrieden.

Was überhaupt die Haftbarkeit auf dem Objektträger betrifft, so wurde vorgeschlagen,[12]) dem Antiformin Brennspiritus zuzusetzen. Von anderer Seite[13]) wurde empfohlen, das lufttrockene Präparat drei Minuten lang in zwei- bis dreiprozentige Sublimatlösung zu halten, jedoch ohne daß diese Methoden ein genügend befriedigendes Resultat gaben.

Da die bisher bestandenen und die neugefundenen Methoden betreffend die Anreicherung der Tuberkelbazillen in ihrer Zuverlässigkeit noch nicht zu befriedigen schienen, wurde vorgeschlagen[14]), dem Sputum die fünffache Menge Ammoniak mit 1% Kalilauge zuzufügen und das Gemisch zu schütteln. Nach wenigen Minuten tritt Homogenisierung ein. Fünfzehn Kubikzentimetern dieser homogenen Flüssigkeit fügt man nun fünf Kubikzentimeter Aceton zu und zentrifugiert.

Jedenfalls war man mit Hilfe aller der aufgezählten Methoden nach Beherrschung ihrer Technik imstande, auch in solchen Sputis Tuberkelbazillen nachzuweisen, in denen man bislang im Ausstrichpräparat keine oder erst nach langem, vergeblichen Suchen solche gefunden hatte.

Im Anschluß an die Untersuchungen von Tuberkelbazillen verdächtigem Sputum, behandelte man auch Faeces,

---

[12]) Schulte, Med. Klinik 1910, No. 5. „Methodik und Technik der neueren Verfahren zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum u. s. f.

[13]) Lagrèze, Deutsche Med. Wochenschrift 1910, No. 2, S. 76. „Zur Antiforminmethode der Sputumuntersuchung".

[14]) Hammerl, Münchner Med. Wochenschrift 1909, No. 38, S. 1955. „Ein Beitrag zur Homogenisierung des Sputums".

Gewebsstücke [15] [16] und selbst Blut [17] [18] der Phthisiker mit Antiformin. Auch hier zeigte sich, daß das Antiformin den an dasselbe gestellten Forderungen entsprach.

So verspricht das Antiformin ein diagnostisches Hilfsmittel zu werden, das seiner Einfachheit halber nicht nur im Laboratorium, sondern auch in der Praxis angewandt werden kann. Selbstverständlich bleibt, was die Sputumuntersuchung anbetrifft, das einfache Ausstrichpräparat auch heute noch der einfachste Nachweis der Tuberkelbazillen und nur dort, wo dieser versagt, d. h. bei solchen Patienten, bei denen im Ausstrichpräparat Tuberkelbazillen nicht gefunden werden, tritt das Antiforminverfahren an seine Stelle.

Im folgenden soll nun über systematische Sputumuntersuchungen mit Hilfe von Antiformin berichtet werden, bei wieviel prozentigem Antiformingehalt der Nachweis gelingt, bei welchen Verdünnungen des Sputums es überhaupt noch gelingt Tuberkelbazillen nachzuweisen, was einen Schluß zuläßt, bei wie spärlichem Vorkommen der Nachweis der Tuberkelbazillen überhaupt noch gelingt und in wieweit endlich die Färbbarkeit der Tuberkelbazillen durch die Antiforminbehandlung leidet.

Zumeist wurde nach der Methode von Seemann gearbeitet: Mit fünfzehnprozentiger Antiforminlösung und ein Fünfzehntel bis ein Zwanzigstel Sputum.

Benützt wurde stets Sputum von derselben Patientin, und zwar von einer Patientin, die während der ganzen Zeit

---

[15]) Klose, Münchner Med. Wochenschrift 1910, No. 3, S. 133. „Ist der Nachweis von Tuberkelbazillen im Stuhl von Phthisikern etc.

[16]) Hall, Gießen, Inaug.-Dissert. Febr. 1910. „Nachweis von Tuberkelbazillen durch Antiformin-Ligroin."

[17]) Treupel, Münchner Med. Wochenschrift 1909, No. 42, S. 2195. Vortrag.

[18]) Lippmann, Münchner Med. Wochenschr. 1909. No. 43 S. 2214. „Zum Nachweis der Tuberkelbazillen im strömenden Blute der Phthisiker."

der Untersuchungen an offener Phthise im dritten Stadium erkrankt war. Das Sputum war sich immer gleich, von zäheitriger Konsistenz, geballt, von grün-gelber Farbe. Es wurden davon nur die erwähnten Ballen gebraucht, keine Speichelbeimengungen, und jeder Ballen wurde vorher mittels gewöhnlichen Ausstrichpräparates auf seinen Gehalt an Tuberkelbazillen untersucht. Gefärbt wurde zumeist nach Ziehl, und es fanden sich in den betreffenden Ausstrichpräparaten nicht allzu reichlich Tuberkelbazillen. Die Anzahl derselben in zirka dreißig Gesichtsfeldern waren ungefähr fünf Stück durchschnittlich. Es fanden sich außerdem noch Epithelien, Leukocyten und Begleitbakterien in Gestalt von einfachen Stäbchen und Diplokokken darin.

Zunächst wurde dieses Sputum mit verschieden starken Antiforminlösungen gemischt. Es wurden je fünf Kubikzentimeter Sputum mit je fünfundneunzig Kubikzentimetern fünfprozentiger, fünfzehnprozentiger und fünfundzwanzigprozentiger Antiforminlösung zusammengebracht, unter Schütteln homogenisiert und vierundzwanzig Stunden im Brutofen stehen gelassen. Die fünfzehnprozentige Lösung entsprach unseren Anforderungen am besten. Denn während bei der fünfprozentigen Lösung nach der vierundzwanzigstündigen Brutofenbehandlung doch noch hie und da ungelöste Bestandteile wie Kokken, Epithelien usw. sich befanden, war dies bei der fünfzehn- und bei der fünfundzwanzigprozentigen nicht der Fall. Dagegen war die fünfundzwanzigprozentige Lösung so dickflüssig und ölig, daß nach einer halben Stunde Zentrifugierens sich noch kein Bodensatz gebildet hatte.

Zum Zentrifugieren wurde eine Wasserzentrifuge mit zweitausend bis zweitausendfünfhundert Umdrehungen in der Minute benutzt. Sämtliche Zentrifugengläschen, ebenso wie die Objektträger und Reagensgläschen waren noch nicht ge-

braucht und wurden außerdem mit roher Schwefelsäure und Wasser oder mit Xylol und Wasser gereinigt.

Es wurden nun einhundertundneunzig Kubikzentimetern einer fünfzehnprozentigen Antiforminlösung in einem Standglas zehn Kubikzentimeter Sputum zugesetzt, der Inhalt während vierundzwanzig Studen homogenisiert und dann demselben zirka fünfzehn Kubikzentimeter Ligroin zugesetzt, so daß das letztere in einer Höhe von ungefähr vier Zentimetern über der Mischung stand. Es wurde nun tüchtig durchgeschüttelt und dann das Ligroin im Wasserbad bei fünfundsechzig Grad ausgetrieben. Mittels Pipette wurde die Oberflächenschicht auf den Objektträger gebracht. In allen Fällen war die Anzahl der Tuberkelbazillen im Verhältnis zu ihrer Anzahl im gewöhnlichen Ausstrichpräparat vermehrt, doch nur in den seltensten Fällen war das Resultat glänzend, so daß die Bazillen überhaupt nicht zu zählen gewesen wären. Dies lag an der schlechten Haftbarkeit, denn meist löste sich schon während der Färbebehandlung der Belag von den Objektträgern, so daß derselbe in der Farblösung und im Salzsäurealkohol umherschwamm. Der Rest, der nach der Behandlung noch haften geblieben war, schwamm bei längerer Betrachtung mittels Oelimmersion im Zedernöl herum. Das schlechte Haften liegt daran, daß bei Entnahme mit der Pipette zu viel Antiformin mit auf den Objektträger gebracht wird.

Bei der nächsten Antiforminlösung, die bis zur Ausschüttelung mit Ligroin in der eben beschriebenen Art behandelt wurde, wurde nun Ligroin in der Höhe von nur einem bis zwei Millimetern aufgegossen. Nach Herstellung der Emulsion durch Schütteln und nach Austreibung des Ligroin wurde die Oberflächenschicht mit der ausgeglühten Platinöse entnommen und auf den Objektträger gebracht. Auch hier

waren die Tuberkelbazillen im Verhältnis zu denen im Ausstrichpräparat vermehrt, doch kam es nie zu Bildern, von denen man überrascht gewesen wäre. Die Haftbarkeit war bei diesen Präparaten entschieden besser, denn während der Färbebehandlung verließen die Beläge die Objektträger nicht. Auch im Zedernöl hafteten sie fest.

Versuche der Ausschüttelung mit Benzin und Petroläther ergaben weder bessere noch schlechtere Resultate.

Uebrigens fand sich bei Prüfung der verschiedenen Antiforminschichten der zu dem zuletzt beschriebenen Versuch benutzten Lösung nach Ausschüttelung mit Ligroin, daß nicht sämtliche Tuberkelbazillen mit an die Oberfläche fortgerissen waren, sondern daß sich am Boden noch solche vorfanden, und zwar zeigten sich nach mehrfacher Zentrifugation und Auswaschung im Gesichtsfeld ungefähr drei Stück durchschnittlich.

Die Versuche, die mit Normalkalilauge und Ligroin [19]) und mit Natronlauge [20]) angestellt worden waren, ergaben bei Nachprüfung keine besseren Resultate wie die mit Antiformin und Ligroin.

Es wurden nun Versuche über die Verteilung der Tuberkelbazillen in den verschiedenen Schichten der Sputum-Antiforminlösungen angestellt. Es wurden zu diesem Zweck Sputum zehn, Antiformin dreißig und Wasser einhundertundsechzig Kubikzentimeter angesetzt, also eine fünfzehnprozentige Antiforminlösung mit einem Zwanzigstel Sputum. Nach vierundzwanzigstündiger Homogenisierung im Brutofen fand sich, daß die oberste Schicht die meisten Tuberkelbazillen enthielt. Am wenigsten waren in der untersten

[19]) Lange und Nitzsche, Deutsche Medizin. Wochenschrift 1909, N. 10, S. 435. „Eine neue Methode des Tuberkelbazillennachweises."

[20]) Ellermann und Erlandsen, Zeitschrift für Hygiene 1908. Band 61, Heft II.

Schicht zu finden. Es wurden aus jeder der in vier Teile geteilten Lösung im Standglase mittels Pipette je ein Zentrifugengläschen mit je fünfzehn Kubikzentimetern Inhalt entnommen, ein jedes eine halbe Stunde zentrifugiert, die obenstehende klare Flüssigkeit abgegossen, mit destilliertem Wasser wieder aufgefüllt und mit einem sterilen Gummipfropf verschlossen durchgeschüttelt. Es wurde dann nochmals eine halbe Stunde zentrifugiert, die obenstehende Flüssigkeit wieder abgegossen und der Niederschlag auf den Objektträger gebracht. Nach Lufttrocknung fand Fixierung über der Flamme statt und Färbung nach Ziehl.

Anfangs wurde die beschriebene Auswaschung unterlassen. Es fand sich dann, daß der auf dem Objektträger haftende Belag bei der Färbebehandlung seine Unterlage verließ. Nach einmaligem Auswaschen haftete das Sediment stets gut.

In dem Präparat, das der obersten Schicht entstammte, zeigten sich im Mikroskop Gesichtsfelder mit zehn bis zwanzig und noch mehr Tuberkelbazillen. In einigen Gesichtsfeldern konnte man zusammenliegende Bündel von ungefähr hundert Tuberkelbazillen erblicken. In einigen Gesichtsfeldern lagen bis zu sechzig Stück verstreut. Aehnlich waren die Bilder bei dem Präparat aus der zweiten Schicht, aus dem unteren Teile der oberen Hälfte der Lösung. Die Gesichtsfelder mit den Bündeln von hundert Stück fallen hier allerdings weg, und andererseits ziehen am Auge Felder vorbei, in denen man nur vereinzelte Tuberkelbazillen erblickt. In dem Präparat aus der dritten Schicht sieht man schon bedeutend weniger Tuberkelbazillen. Einzelne Felder mit zehn, zwanzig und dreißig Stück ziehen als die reichhaltigsten am Auge vorbei. Endlich in dem Präparat aus der Bodenschicht liegen die Tuberkelbazillen in Häufchen

von fünf bis zehn Stück zusammen. Zahlreiche Gesichtsfelder ohne Tuberkelbazillen erblickt man hier.

Der Grund für diese ungleiche Verteilung mag darin zu finden sein, daß die bei der weiteren Homogenisierung und Zersetzung durch das Antiformin entstehenden Sauerstoffbläschen die Tuberkelbazillen zum Teil mit in die Höhe reißen, ähnlich wie beim Ligroinverfahren.

Es fragt sich nun, in welcher Zeit sich die Tuberkelbazillen infolge der Antiformineinwirkung verändern oder, ob das Antiformin keinen zerstörenden Einfluß auf dieselben ausübt, ob die Färbbarkeit leidet und ob ein Zusammenhang zwischen den Tuberkelbazillen und den in manchen Präparaten dieser Untersuchungen auftretenden Granula besteht [21]) [22]) [23]).

Um auf diese Fragen einzugehen und dieselben zu beantworten zu versuchen, stellten wir zunächst eine Lösung her, die prozentual der zu den bis jetzt angestellten Versuchen verwendeten entspricht: zwanzig Kubikzentimeter Sputum, sechzig Kubikzentimeter Antiformin und dreihundertundzwanzig Kubikzentimeter Wasser, also wieder eine fünfzehnprozentige Antiforminlösung und eine fünfprozentige Sputumlösung. Dieses Gemisch wurde wieder vierundzwanzig Stunden lang unter öfterem Schütteln im Brutofen homogenisiert. Doch schon nach der ersten Stunde wurden nach kräftigem Umschütteln einige Reagensgläschen von zwanzig Kubikzentimetern Inhalt von der Lösung, die wir der Einfachheit haber Lösung A nennen wollen, abgefüllt.

---

[21]) Rosenblat, Münchner Medzin. Wochenschrift 1909, N. 49, S. 2521. „Ueber die granuläre Form der Tuberkelbazillen im Sputum."

[22]) Much, Berliner klin. Wochenschrift 1908, N. 14. „Die nach Ziehl nicht darstellbare Form des Tuberkelbazillus."

[23]) Liebermeister, Deutsche Medizin. Wochenschrift 1909, N. 28, S. 1224. „Ueber die nach Ziehl nicht darstellbare Form des Tuberkelbazillus."

Von diesen Gläschen wurde das erste bereits nach einer halben Stunde, also nach einer und einer halben Stunde nach Ansetzung der Lösung gerechnet, zentrifugiert, ausgewaschen, wieder zentrifugiert, das Sediment auf den Objektträger gebracht, getrocknet, fixiert und nach Ziehl gefärbt. Bei diesem Präparat zeigen sich in den verschiedenen Gesichtsfeldern ungefähr zwanzig bis vierzig bis sechsig Tuberkelbazillen. Vereinzelt sieht man auch in Häufchen angeordnet eine größere Anzahl. Die einzelnen Bazillen erscheinen nicht mehr so leuchtend und durchsichtig wie im einfachen Ausstrichpräparat; sie erscheinen leicht gequollen. Im ganzen sind sie jedoch unverändert. Daneben zeigen sich vereinzelt einfache Kokken und Diplokokken. Nach Gram gefärbt zeigen sich in einem Präparat von derselben Lösung und nach derselben Zeit alle möglichen nach Gram positiven Stäbchen und Kokken.

Nach vierstündigem Stehen der Lösung A wurde auf die oben geschilderte Weise das nächste Präparat angefertigt. Es ist von dem vorhergehenden nicht merkbar verschieden.

Die nächsten Präparate von der Lösung A wurden nach vierundzwanzig Stunden angefertigt, und zwar wurde wiederum je ein Präparat nach Ziehl und eins nach Gram gefärbt. In dem Präparat nach Ziehl sind die Kokken vollständig geschwunden. Man sieht in den einzelnen Gesichtsfeldern massenhafte Bündel von Tuberkelbazillen, bis zu vierzig Stück enthaltend; in manchen Gesichtsfeldern erblickt man so zahlreiche Bündel, daß man die Zahl der Tuberkelbazillen nur schätzen kann. Daneben tauchen Gesichtsfelder auf, die auch weniger Tuberkelbazillen enthalten. Die einzelnen Bazillen erscheinen nicht mehr so dick, wie in den Präparaten, die schon kurze Zeit nach Ansetzen der Lösung

angefertigt wurden. Auch bei diesem Präparat erscheinen die einzelnen Bazillen nicht mehr so leuchtend, sie sehen mehr schmutzig rot aus[24]).

Bei Gramfärbung sieht man Gram positive Stäbchen, dann Reihen von Granula zu je vier und fünf Stück und vereinzelte Granula zwischen den Stäbchen verstreut.

Es wurde mit den Präparaten bei deren Herstellung äußerst sorgfältig umgegangen; es wurden nur frische, gut filtrierte Farblösungen gebraucht, und es wurde sehr lange entfärbt, so daß es sich bei den als Granula aufgefaßten Punkten nicht um Farbniederschläge handeln konnte. Auch begannen die als Granula aufgefaßten Pünktchen nach einiger Zeit abzublassen.

Auf dieselbe Art wurden nun ein Präparat nach Gram und eins nach Ziehl nach achtundvierzig Stunden angefertigt. Es zeigte sich bei Ziehlfärbung ungefähr dasselbe Bild wie in dem vorigen Präparat. Die Häufchen der massenhaft zusammenliegenden Tuberkelbazillen werden geringer. Vor allem sieht man viele Stäbchen, in denen die Granula durchschimmern. Im Grampräparat sieht man mehr Granula und Granulareihen als Stäbchen von gleichmäßiger Konsistenz.

Bei zwei Präparaten, die nach sechsundneunzig Stunden von der Lösung A angefertigt wurden, zeigten sich in dem nach Ziehl gefärbten die roten Stäbchen auffallend vermindert. Dagegen erblickt man in dem nach Gram gefärbten Präparat zahlreiche zu je vier und fünf Stück angeordnete Granulareihen und viele einzelne und in Häufchen liegende Granula. Diese letzteren lassen die frühere Anordnung der Tuberkelbazillen in Bündeln erkennen, die wir in den ersten Präparaten sahen.

---

[24]) Sachs-Mücke, Deutsche Medizin. Wochenschrift 1910, N. 7, S. 320.

In derselben Weise nehmen die roten Stäbchen in den nach Ziehl gefärbten Präparaten, die während der nächsten Tage angefertigt wurden, von Tag zu Tag ab, während in den nach Gram gefärbten Präparaten man vornehmlich Gram positive Stäbchen vereinzelt und vermehrt Granulareihen und -häufchen erblickt.

Nach zehn Tagen angefertigte Präparate von der Lösung A lassen bei Ziehlfärbung nur noch vereinzelte blaßrötlich schimmernde Stäbchen, die dem Auge kaum auffallen, erkennen.

Schon am nächsten, also am elften Tag, war von nach Ziehl färbbaren Stäbchen nichts mehr zu sehen. Bei Gramfärbung ähnelt das Präparat dem des vorhergehenden Tages.

Unter Einwirkung des fünfzehnprozentigen Antiformins hatten sich also die nach Ziehl färbbaren Stäbchen nach elf Tagen vollständig verändert. Die einhüllende, die Tuberkelbazillen wie einen Panzer umgebende Fettwachssubstanz war zerstört worden. Dafür traten, mit jedem Tage zunehmend, Gram positive Stäbchen und Granula auf[25]). Es muß sich also beim Auftreten von Granula zunächst um Zertrümmerungsformen handeln[26]) [27]). Ob sich nun diese Formen wieder in nach Ziehl färbbare Stäbchen, z. B. durch den Tierversuch, umbilden können, darüber geben die Untersuchungen von Much Auskunft.

Von jener Lösung A wurden nun nach einstündigem

[25]) Rosenblat, Münchner Medizin. Wochenschrift 1909, N. 49, S. 2521. „Ueber die granuläre Form der Tuberkelbazillen im Sputum".

[26]) Much, Berliner klin. Wochenschrift 1908, N. 14. „Die nach Ziehl nicht darsellbare Form des Tuberkelbazillus".

[27]) Liebermeister, Deutsche Medizin. Wochenschrift 1909, N. 28, S. 1224. „Ueber die nach Ziehl nicht darstellbare Form des Tuberkelbazillus".

Stehen, vom Ansetzen der Lösung an gerechnet, fünf weitere Reagensgläschen gefüllt und zwar wie folgt:

1. 16 ccm von Lösung A und
   4 ccm Wasser,
2. 12 ccm von Lösung A und
   8 ccm Wasser,
3. 8 ccm von Lösung A und
   12 ccm Wasser
4. 4 ccm von Lösung A und
   16 ccm Wasser und endlich
5. 1 ccm von Lösung A und
   19 ccm Wasser.

Diese fünf Gläschen blieben vierundzwanzig Stunden im Brutofen stehen, wurden dann in der oben geschilderten Weise zentrifugiert, ausgewaschen und wieder zentrifugiert; das Sediment wurde auf den Objektträger gebracht, getrocknet, fixiert und nach Ziehl gefärbt. Was sich bei diesen Präparaten zeigte, sprach in außerordentlich günstiger Weise für das Antiformin.

Das von Gläschen 1 angefertigte Präparat zeigt fast ebensoviel Tuberkelbazillen wie das Präparat, das nach vierundzwanzig Stunden von der Lösung A angefertigt wurde. Es finden sich hin und wieder Bündel bis zu vierzig Stück Tuberkelbazillen, ganz vereinzelt einmal ein Bündel mit ungefähr hundert Stück, doch ziehen auch Gesichtsfelder am Auge vorbei, in denen man nur vereinzelte Bazillen antrifft.

In dem Präparat, das von Gläschen 2 angefertigt und nach Ziehl gefärbt wurde, nimmt die Zahl der Tuberkelbazillen ab. Bis zu zwanzig Stück sieht man in einzelnen Gesichtsfeldern liegen. Darunter finden sich Bündel mit zehn und fünfzehn Stück und ganz vereinzelt noch eins mit ungefähr fünfzig Stück.

Im Präparat von Gläschen 3 findet eine weitere Verminderung statt. Namentlich läßt die Anordnung der Tuberkelbazillen in größeren Bündeln immer mehr nach.

Im Präparat von Gläschen 4 finden sich schon weite Strecken ohne Tuberkelbazillen. Doch zeigt sich immer noch eins mit gegen dreißig Stück. In den anderen Gesichtsfeldern liegen sie in geringerer Anzahl und teilweise ganz vereinzelt.

Im Präparat vom 5. und letzten Gläschen endlich, in dem sich nur ein einziger Kubikzentimeter der Lösung A befand, zeigen sich immer noch mehr Tuberkelbazillen, als der Erwartung entsprechen. Allerdings nur ganz vereinzelt sieht man noch Bündel von vier und sechs Stück, dazwischen vereinzelte Tuberkelbazillen. Streckenweise ist dann wieder gar nichts zu sehen. Jedenfalls übersteigt die Anzahl der in diesem Präparate sichtbaren Tuberkelbazillen die Zahl derer im gewöhnlichen Ausstrichpräparat.

Namentlich dies letzte Präparat beweist die Möglichkeit, mit Antiformin im Sputum Tuberkelbazillen nachzuweisen, auch wenn sie sich nur ganz spärlich darin vorfinden. Sobald nur überhaupt Tuberkelbazillen vorhanden sind, lassen sie sich durch Anreicherung mittels Antiformin leicht nachweisen.

Es sollen nun einige Fälle mitgeteilt werden, bei denen die Antiforminanreicherung praktisch zur Anwendung kam.

Bei einigen Patienten, bei denen Verdacht auf Nierentuberkulose bestand und deren Urin mit Antiformin behandelt wurde, fanden sich keine Tuberkelbazillen. Da diese Fälle bei Abschluß der Untersuchungen noch nicht ad exitum und somit zur Sektion gekommen waren, so kann hierüber nichts weiter gesagt werden.

Ebenso bieten die Fälle nichts neues, bei denen im

Sputum mittels Antiforminanreicherung sofort Tuberkelbazillen gefunden wurden, bei denen im gewöhnlichen Ausstrichpräparat teils überhaupt keine, teils erst nach wiederholtem Untersuchen und nach langem Suchen solche gefunden wurden. Solche Fälle sind zur Genüge beschrieben worden.

Es folgt dann ein Fall vorgeschrittener Lungentuberkulose, bei dem sich schon im Ausstrichpräparat zahlreiche Tuberkelbazillen fanden; die betreffende Patientin warf alles Sputum aus und verschluckte nichts davon. Bei dieser Patientin wurden ungefähr vier Wochen ante exitum im Stuhl mittels Antiforminanreicherung Tuberkelbazillen gefunden. Die Autopsie ergab tuberkulöse Darmgeschwüre.

Es handelte sich hierbei um eine dreißigjährige Frau, die Mutter und einige Geschwister an Lungentuberkulose verloren hatte. Diese Frau war seit vier Jahren lungenkrank und bei ihrer Aufnahme am 20. Juni 1908 fanden sich über der rechten Spitze Erscheinungen fortgeschrittener Zerstörung. Weniger ausgeprägt waren die Veränderungen über der linken Spitze. Patientin wurde mit gutem Allgemeinbefinden am 24. Juli 1909 entlassen, kam aber bereits am 16. Dezember 1909 wieder in abgemagertem und geschwächtem Zustand. Die Veränderungen an der Lunge waren namentlich links weiter fortgeschritten. Im Sputum fanden sich reichlich Tuberkelbazillen. Am 28. Dezember klagte Patientin zum ersten Mal über Leibschmerzen und Obstipation. Die Beschwerden verloren sich auf Verabreichung von Laxantien und Termophor. Am 14. Januar 1910 klagte Patientin wieder über Schmerzen oberhalb der rechten Leistengegend. Die Palpation ergab zwei Querfinger oberhalb des Poupartschen Bandes einen kinderfaustgroßen Tumor, der auf kräftigen Stuhlgang nicht verschwand. Am 25. Januar

wurden mittels Antiforminanreicherung im Stuhl Tuberkelbazillen nachgewiesen, und am 17. Februar trat der Exitus ein. Die Autopsie ergab frische Perforation des Colon transversus und Tuberkulose der Lungen, des Kehlkopfes und des Darmes.

In diesem Falle wurde durch den Befund der Tuberkelbazillen im Stuhl die Diagnose Darmtuberkulose unterstützt.

Der nächste Fall stellt eine junge Frau dar von neunundzwanzig Jahren, die am 20. Februar 1910 wegen Leuchtgasvergiftung im tiefen Coma eingeliefert wurde. Trotz Verabreichung großer Mengen Sauerstoff reagierte Patientin erst am Abend auf Anruf. Die Vergiftung ging in eine Psychose über, so daß Patientin am 5. März in die städtische Nervenheilanstalt überführt werden mußte. Aus diesem Grunde ist über den weiteren Verlauf der Erkrankung nichts bekannt. Am 21. Februar fanden sich bei genauer Untersuchung über der rechten Spitze leichte Dämpfung, verschärftes Atmen und vereinzeltes Knacken. Die linke Spitze ergab keine Besonderheiten. Obwohl Patientin viel hustete, war ihres geistigen Zustandes wegen kein Auswurf zu erhalten. Das Abdomen ergab keine Besonderheiten, vergrößerte Drüsen waren nicht nachzuweisen. Der Stuhlgang war regelmäßig und von normaler Beschaffenheit. Der befragte Ehemann will zu Haus nie etwas von einer Lungenerkrankung, Husten oder Auswurf bemerkt haben. Da nun der Verdacht auf Lungentuberkulose bestand, Auswurf aber nicht zu bekommen war, da Patientin denselben hinunterschluckte, wurde der Stuhl auf Tuberkelbazillen mittels Antiforminanreicherung untersucht und es fanden sich solche auch in allerdings spärlicher Anzahl. Da hier in diesem Falle nichts für die Annahme einer Darmtuberkulose sprach, so wurde die Diagnose auf Lungentuberkulose gestellt. Jeden-

falls war das Vorhandensein einer offenen Tuberkulose erwiesen.

Ein anderer, ähnlicher Fall behandelte ein zweijähriges Kind, dessen Mutter und ein Bruder an Tuberkulose zu Grunde gegangen waren.

Der Aufnahmebefund vom 1. Oktober 1909 lautete: blasse Gesichtsfarbe, Hals- und Leistendrüsen sind vergrößert. Rechts hinten unten über der Lunge vereinzelte Rasselgeräusche. Das Abdomen ist leicht aufgetrieben, die Milz nicht vergrößert, die Leber überragt den Rippenbogen um einen Querfinger. Es besteht außerdem rachitischer Rosenkranz und Epiphysenauftreibung der Unterarme. Die Pirquetsche Reaktion verlief positiv, auf Alt-Tuberkulin reagierte das Kind mit hohem Fieber und starker Gewichtsabnahme. Am 24. Januar 1910 wurden im Stuhle mittels des Antiforminverfahrens Tuberkelbazillen nachgewiesen. Dieser Befund unterstützte hier die Diagnose Lungen- und Darmtuberkulose.

Im Anschluß daran sollen noch drei Fälle mitgeteilt werden, bei denen frisch entnommenes Blut auf Tuberkelbazillen untersucht wurde [28]) [29]).

Zu diesem Zweck wurden aus der Vena mediana mittels Lührscher Spritze zehn Kubikzentimeter Blut entnommen und in dreißig Kubikzentimetern dreiprozentiger Essigsäure gelöst. Nach einer halben Stunde wurde die gesamte Lösung in vier Zentrifugengläschen eine Stunde lang zentrifugiert. Die obenstehende klare Flüssigkeit wurde abgegossen, das Zentrifugat jedoch mit sechzig Kubikzentimetern fünfzehn-

---

[28]) Lippmann, Münchner Medizin. Wochenschrift 1909, N. 43, S. 2214. „Zum Nachweis der Tuberkelbazillen im strömenden Blute von Phthisikern."

[29]) Treupel, Münchner Medizin. Wochenschrift 1909, N. 42, S. 2195. Vortrag.

prozentiger Antiforminlösung vermischt. Das ganze wurde durchgeschüttelt und eine Stunde lang im Brutofen stehen gelassen. Dann wurde abermals ein Zentrifugengläschen gefüllt, dasselbe eine Stunde lang zentrifugiert, die klare Flüssigkeit abgegossen und der Rückstand auf den Objektträger gebracht. Nach Trocknung und Fixierung über der Flamme wurde nach Ziehl gefärbt.

Es handelte sich in allen drei Fällen um Phthisiker im letzten Stadium. In dem Präparat von einem zweiundzwanzig Jahre alten Arbeiter fanden sich sechs bis acht in Reihen zu je vier und fünf Stück angeordnete Granula, keine Stäbchen.

In dem zweiten von einem fünfunddreißig Jahre alten Feilenhauer stammenden Präparat fanden sich sechs nach Ziehl färbbare rote Stäbchen und drei nicht nach Ziehl färbbare Granulareihen.

In dem letzten Präparat endlich, zu dem das Blut einem neunzehn Jahre alten Fabrikarbeiter entnommen wurde, fanden sich weder Stäbchen noch Granulareihen.

Es ist so gut wie ausgeschlossen, daß es sich in den ersten beiden Fällen um etwas anderes handelte als um Tuberkelbazillen.

Es wurde nun eingewendet, daß es sich hierbei nicht um Tuberkelbazillen handele, sondern um säurefeste Stäbchen, die in destilliertem Wasser vorkämen.[30]) Es ist dabei nur zu verwundern, daß bei den drei geschilderten Fällen rote Stäbchen nur bei dem zweiten Präparat gesehen wurden, bei dem ersten nur Granulareihen und bei dem dritten überhaupt nichts, obwohl zur Anfertigung aller drei Präparate destilliertes Wasser aus ein und demselben Behälter gebraucht wurde. Handelte es sich um gewisse säurefeste

[30]) Brem. Journ. of American Association 18./IX. 1909. „Tuberkelbazillen im Blute."

Stäbchen, die nur im destillierten Wasser vorkommen, so hätte das Bild in allen drei Präparaten das gleiche sein müssen.

Das Ergebnis der angestellten Untersuchungen könnte man kurz in folgende Sätze zusammenfassen:

Es wird bestätigt, daß

1. eine fünfzehnprozentige Antiforminlösung am geeignetsten zur Anreicherung von Tuberkelbazillen ist,

2. die Antiforminmethode im Verhältnis zu anderen Anreicherungsverfahren ein einfacher und sicherer, dabei nicht zeitraubender Nachweis für das Vorhandensein von Tuberkelbazillen ist, namentlich dort, wo die Bazillen spärlich auftreten oder in Substanzen vorkommen, die wie Stuhl und Blut sich nicht wie Sputum auf den Objektträger bringen lassen.

3. Die Tuberkelbazillen werden unter dem Einfluß des Antiformins allmählich zertrümmert und dafür lassen sich nach Gram positive Stäbchen und Granula teils in Reihen angeordnet, teils einzeln nachweisen. Es handelt sich also anscheinend bei den nach Ziehl nicht nachweisbaren Formen des Tuberkelbazillus um Zertrümmerungsformen. Außerdem wurde die schon bewiesene Tatsache bestätigt, daß nach vierundzwanzig Stunden eine fünfzehnprozentige Antiforminlösung sämtliche Bakterien vernichtet, außer den säurefesten.

4. Bei Individuen, die tuberkuloseverdächtig sind und von denen kein Sputum zu erhalten ist, kann man im Stuhl die verschluckten Tuberkelbazillen leicht nachweisen mittels der Antiforminanreicherung und dadurch die Diagnose stützen.

5. Im strömenden Blut vorgeschrittener Phthisiker können wohl Tuberkelbazillen kreisen. Sie lassen sich mittels des Antiforminverfahrens nachweisen, und es ist nicht wahrscheinlich,

daß es sich dabei um säurefeste Stäbchen handelt, die sich im destillierten Wasser befinden und mit dem Erreger der Tuberkulose nichts zu tun haben.

Zum Schlusse sage ich Herrn Prof. Dr. Clemens meinen ergebensten Dank für Ueberweisung des Themas, für das entgegengebrachte Interesse und wiederholte Anregungen bei Anfertigung dieser Arbeit, für Ueberlassung der Fälle und für die Erlaubnis, im chemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses in Chemnitz die chemischen Arbeiten vornehmen zu dürfen.

Lebenslauf.

Ich heiße Christian Friedrich Georg Baumann und wurde am 27. Mai 1881 in Crimmitschau als Sohn des Zivil-Ingenieurs Johann Georg Baumann geboren. Von Schulen besuchte ich von Ostern 1887 bis Ostern 1891 die Bürgerschule zu Crimmitschau, von Ostern 1891 bis Ostern 1895 die Realschule zu Crimmitschau. Ostern 1895 bezog ich das städtische Realgymnasium (jetzt Petrischule) der Stadt Leipzig, wo ich mich Ostern 1902 der Reifeprüfung unterzog. Von Ostern 1902 bis mit Sommersemester 1904 hörte ich in Leipzig als stud. med. die vorklinischen Kollegien und bestand Ende Sommersemester 1904 das Physikum. Wintersemester 1904/5 bis mit Sommersemester 1905 studierte ich in München, um im Wintersemester 1905/6 wieder die Universität Leipzig zu beziehen. Hier bestand ich im Wintersemester 1908/9 das ärztliche Staatsexamen. Vom 1. April 1909 bis 1. Oktober 1909 brachte ich als Medizinalpraktikant an der Privatheilanstalt für Nerven- und Gemütskranke Asyl Carlsfeld in der Prov. Sachsen zu. Vom 1. Oktober 1909 bis 31. März 1910 hielt ich mich als Medizinalpraktikant am städtischen Krankenhaus in Chemnitz auf. Seit 1. April 1910 bis heute, befinde ich mich in Radeberg in der Praxis.